

高温对本氏烟抗病毒机制影响的研究

徐振鹏, 邱 隆, 杨 婷, 林宏辉, 席德慧

(四川大学生命科学学院 生物资源与生态环境教育部重点实验室, 成都 610064)

摘 要: 为探究温度和植物抗性的相互作用, 本研究对本氏烟(*Nicotiana benthamiana*, Nb)被芜菁花叶病毒(*Turnip mosaic virus*, TuMV)侵染后在不同温度下的表现进行实验, 通过分子研究手段测定了温度对植物抗病毒能力的影响. 结果显示, 与常温(23℃)处理相比, 病毒侵染在高温(30℃)处理下被抑制; 且高温处理下水杨酸羟化酶(NahG)转基因烟草更显著. 进一步检测表明, 高温能够显著提高 NahG 烟草中抗氧化酶的活性. 在侵染后期, 高温促使染病植株中茉莉酸(Jasmonic acid, JA)相关基因表达显著上调. 同时, RNA 沉默相关基因的表达量在高温处理下的 NahG 烟草中均上调. 上述结果表明, 高温通过刺激 RNA 沉默及相关抗逆激素途径提高了植株对病毒的抗性.

关键词: 温度; 芜菁花叶病毒; 本氏烟; 水杨酸羟化酶; RNA 沉默

中图分类号: Q945.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 0490-6756(2019)04-0749-09

The research on the interaction between high temperature and viral defense mechanism in *Nicotiana benthamiana*

XU Zhen-Peng, QIU Long, YANG Ting, LIN Hong-Hui, XI De-Hui

(Key Laboratory of Bio-Resource and Eco-Environment of Ministry of Education, College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

Abstract: To explore the interaction between temperature as environmental factor and defense mechanism in the plant, we designed the experiment to research the action of *Nicotiana benthamiana* (Nb) infected *Turnip mosaic virus* (TuMV) under different temperature conditions, to analyze the effect of temperature to viral defense mechanism in the plant through a series of techniques of molecular biology. The analysis of Western blotting indicated that the infection of TuMV was reduced at a high temperature (30℃) compared with those under normal temperature (23℃) conditions. Moreover, salicylate hydroxylase (NahG)-transgenic *N. benthamiana* plants exhibited higher resistance to TuMV at high temperatures than the wild type plants. Further experiments of enzyme-linked immunosorbent assay showed higher activities for some antioxidant enzymes and higher reduced glutathione contents in the NahG plants at high temperature. The regulated jasmonic acid (JA) gene exhibited high expression under high temperature conditions at the late stage of infection. In addition, key components of the RNA silencing pathway were upregulated in the NahG plants. Taken together, these results indicated that high temperature had significant effects on plant resistance and improved the tolerance of *N. benthamiana* plants against TuMV infection via RNA silencing and related phytohormone pathways.

收稿日期: 2018-06-25
基金项目: 国家自然科学基金(31772131, 31270290)
作者简介: 徐振鹏(1992—), 男, 成都市人, 硕士研究生, 从事植物植物病理学研究. E-mail: 715499610@qq.com
通讯作者: 席德慧. E-mail: xidh@scu.edu.cn

Keywords: Temperature ; *Turnip mosaic virus* ; *Nicotiana benthamiana* ; Salicylate hydroxylase ; RNA silencing

1 引言

植物在自然环境中生长,会遭遇不同的生物及非生物胁迫因子;为了应对这些胁迫因子的危害,植物能够激活一系列防御机制,对胁迫做出响应,完成正常的生长发育进程^[1].植物内部的免疫调控机制精密而有效,一方面能够保证对外来病原物的有效抑制,另一方面又能尽量减少对植物的负面效应^[2].植物对病原物的防御可由抗性基因(R 基因)所介导的反应来实现,当病原物所携带的病原效应分子进入植物细胞后,植物能够迅速产生由 R 基因编码的有活性的抗性蛋白对病原物进行识别,触发特定免疫反应.不同的环境因子,如光照,温度,节律,营养等,对植物和病原物的互作系统存在不同的影响,表现出各种环境因子和病原物相互作用的表型^[3-5].其中,温度因子的作用最为广泛和明显,能够在植物对病原物的防御和免疫应答中起到重要的作用^[6, 7].有研究表明,在高温环境下,植物对病原物的抗性会被削弱,而在低温处理下,其自身的 RNA 沉默机制会被抑制,造成对病毒侵染的抗性下降^[8].

在植物对外界胁迫做出响应的过程中,水杨酸(SA)是一种关键的信号分子,能够在抗性基因的指导下激活一系列防御因子,展开对外界不利因素的应答^[9].但水杨酸羟化酶(NahG)基因编码的酶可以催化水杨酸酯的脱羧化,降低 SA 的积累.而茉莉酸(JA)也能够参与到植物抗性的调节中来,发挥重要作用.有研究表明,JA 在植物的耐热性中具有重要的作用^[10];在植物抵御不同的生物胁迫中 JA 也扮演着关键角色,*COI1*,*PDF1.2* 和 *PR4* 是 JA 主要的下游调节因子,能够参与 JA 途径调节的过程^[11].RNA 沉默也是一种非常重要的防御机制,主要通过 DCLs,RDRs,AGOs 蛋白等实现对入侵病原物的清除^[12].有研究表明,DCL2 与 DCL4 在拟南芥抵御烟草脆裂病毒和黄瓜花叶病毒的系统性侵染中有重要的作用^[13].此外,RDRs 也是 RNA 沉默途径中的重要一环.有研究表明,RDR6 参与粘毛烟草对生物和非生物胁迫的应答^[14].

芜菁花叶病毒(*Turnip mosaic virus*,TuMV)是马铃薯 Y 病毒科(*Potyviridae*)马铃薯 Y 病毒属(*Potyvirus*)家族的一员.具有不同的宿主适应性,能够侵染多种十字花科的重要作物,在世界范围内造成广泛的植物病害^[15].本研究利用本氏烟(Nb)和转入水杨酸羟化酶基因(NahG)的本氏烟植株,探究了

温度对 TuMV-GFP 侵染和烟草防御的影响.结果显示,高温能够显著提高 NahG 烟草对 TuMV-GFP 的抗性.

2 材料与方法

2.1 实验材料

本氏烟(Nb)种子由本实验室保存,NahG 转基因本氏烟种子由中科院微生物所郭惠珊研究员馈赠,TuMV-GFP 由美国爱荷华州立大学 Steve Whitham 教授馈赠.

2.2 实验方法

2.2.1 植物材料培养和病毒接种 供试植物材料种植于均温 23 ℃ 的温室,光照周期为每天 12 h 光照/12 h 黑暗.机械摩擦接种 TuMV-GFP,置于不同温度(23 ℃,30 ℃)条件下培养.

2.2.2 植物总蛋白提取及 Western blot 分析 称取实验材料加入液氮研磨,加适量蛋白提取缓冲液.于 80 ℃ 恒温水浴锅中水浴 30 min,完毕后以 8000 g 离心 10 min,所得上清液为总蛋白.制作 SDS-PAGE 胶,进行聚丙烯酰胺凝胶电泳.待电泳结束后,进行 Western blot 检测.

2.2.3 活性氧(ROS)含量和丙二醛含量的测定 分别用氮蓝四唑(NBT)染色法和二氨基联苯胺(DAB)染色法对供试材料中的超氧离子($O_2^{\cdot-}$),过氧化氢(H_2O_2)进行检测.通过测定硫代巴比妥酸(TBARS)值确定丙二醛(MDA)的含量.

2.2.4 抗氧化酶活性及还原性谷胱甘肽 GSH 的检测 使用粗酶提取液提取实验材料中的抗氧化酶,以分光光度法测定实验材料中抗氧化酶类(SOD,POD,CAT)的活性^[16].材料中谷胱甘肽(GSH)含量使用酶联免疫试剂盒测定.

2.2.5 植物总 RNA 提取及 qRT-PCR 检测 用酚仿抽提氯化锂沉淀法提取总 RNA 后.按反转录体系配制反应液,于 65 ℃ 水浴 8~10 min,冰上冷却 3 min.再加入延伸体系于 37 ℃ 恒温水浴 1 h.结束后置于 75 ℃ 恒温水浴 15 min,-20 ℃ 保存备用.PCR 反应体系:总体系体积为 25 μ L,模板(cDNA)2 μ L,上下游引物各自 0.5 μ L,PCRmix 12.5 μ L,剩余体积使用双蒸水补齐.所用引物见表 1.

3 结果与分析

3.1 高温对 TuMV-GFP 侵染 NahG 植株的影响结果

为了研究高温诱导对病毒的抗性和植物激素

信号通路的影响,将 Nb 和 NahG 两种植物材料接种 TuMV-GFP 后置于不同温度下培养. 结果显示,在不同温度处理下,两种植物对于病毒的感染所表现出的症状和呈现的抗性反应不同(图 1A).

表 1 qRT-PCR 检测所用引物
Tab. 1 Primers used for qRT-PCR analysis in this study

Gene	Accession	F-primer	R-primer
<i>NbCOI1</i>	AY428737	5'-TAAAGCGGCTCAGGAT-3'	5'-AAAGCACGGACACCAT-3'
<i>NbPDF1.2</i>	X99403	5'-TTGCTTGTCACGGCTAC-3'	5'-ACCGAAATTGGATACCTT-3'
<i>NbWRKY3</i>	KM510347.1	5'-GCTACCAGCAAAGAAAGAGAG-3'	5'-AAAGGATGACCGAGTGAACAG-3'
<i>NbDCL2</i>	FM986781.1	5'-TATGAAAACCATCACGAGGTCTAC-3'	5'-AAACTTGGGAATTATCACCAGGAAT-3'
<i>NbDCL4</i>	FM986783.1	5'-TTTATCCCAACAACCTTCTACGC-3'	5'-CTGATGACATTTGCTACACCTA-3'
<i>NbAGO2</i>	XM_019372526	5'-CTCCTTACCACCTCCACAC-3'	5'-TTCACGCACAAACACCTTGC-3'
<i>NbRDR6</i>	FJ966891.1	5'-TGACGTGGCTTTTGATG-3'	5'-TCTTGAATAAAGCATTGGCC-3'
<i>NbPR4</i>	S44869	5'-AATGGAGGGCTTGATTTAGATGT-3'	5'-TTATTGTGGTTTTTTATGATGGT-3'

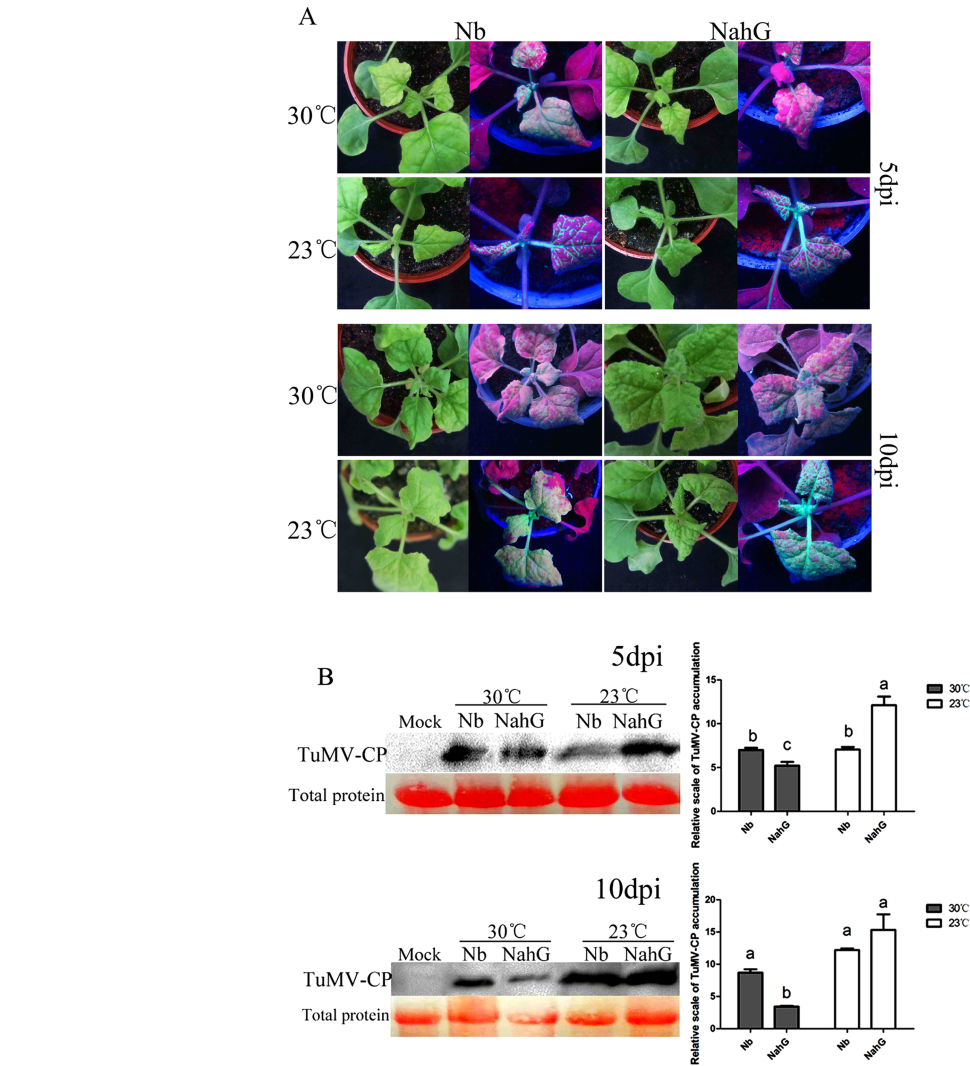


图 1 Nb 和 NahG 接种 TuMV-GFP 后的症状及病毒积累量

A. Nb 和 NahG 接种 TuMV-GFP 后在 23°C, 30°C 条件下的症状图(接种后第 5 d 和第 10 d, 分别在白光和紫外光下观察); B. TuMV-CP 蛋白的 Western 检测. “Mock”表示对照组植物, 磷酸盐缓冲液接种. 柱状图表示从三个重复中获得结果的平均值和标准偏差, 并进行多重比较分析.

Fig. 1 Effect of temperature on the development of symptoms in TuMV-GFP infected *N. benthamiana* plants and NahG transgenic plants

A. Symptoms of TuMV-GFP inoculated *N. benthamiana* and NahG plants under 23°C and 30°C respectively. Images were obtained under a UV light at 5dpi and 10dpi; B. Western blot analysis of TuMV-CP levels. “Mock” indicates plants mock inoculated with phosphate buffer. Bars represent mean and standard deviation of values obtained from three biological replicates and use multiple comparison analysis.

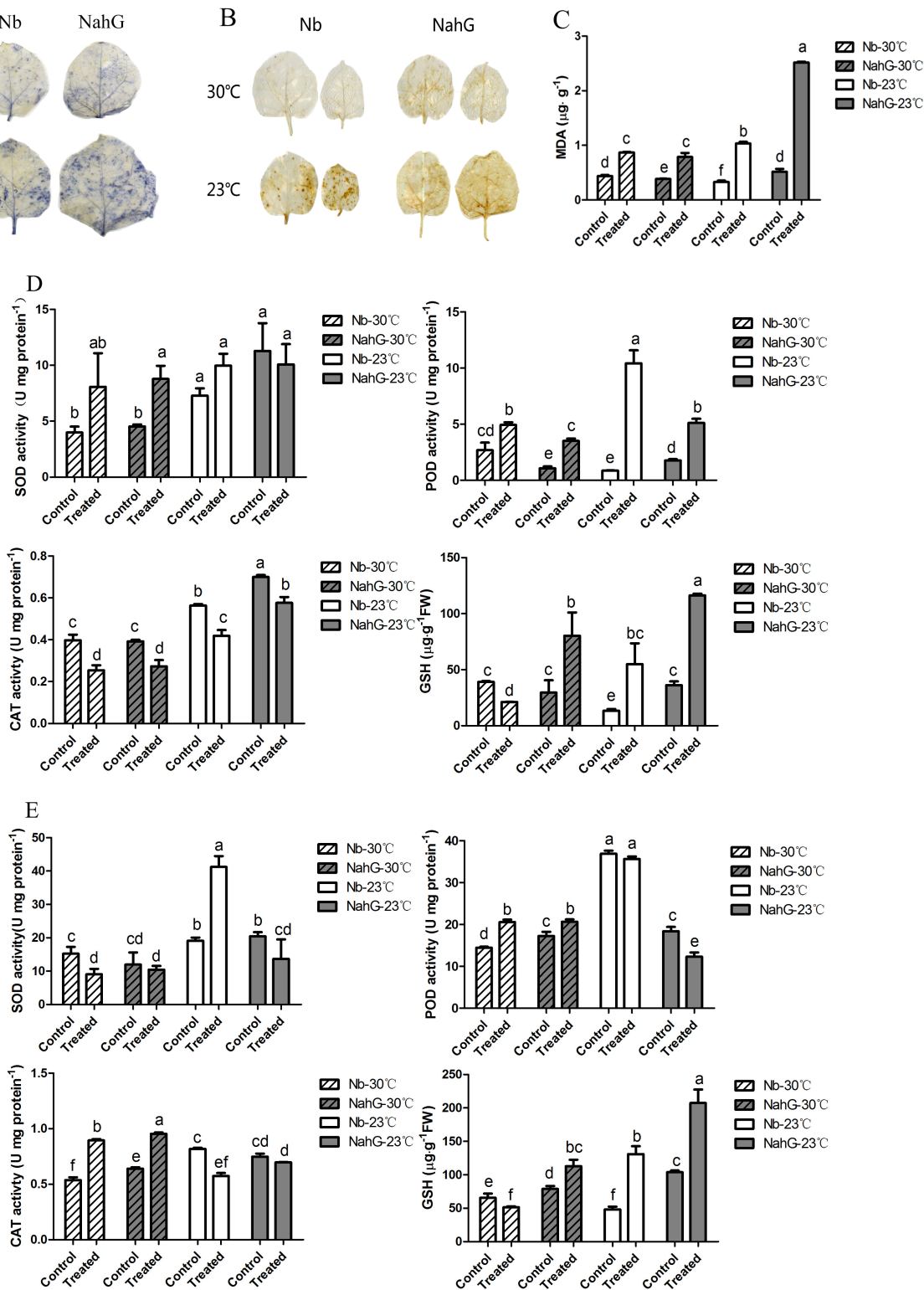


图 2 Nb 和 NahG 接种 TuMV-GFP 后活性氧、细胞损伤及氧化还原系统变化的检测

A 和 B, NBT 和 DAB 染色后的结果. C, MDA 的含量. D 和 E, 植株中抗氧化酶类(SOD, POD, CAT)和谷胱甘肽(GSH)在接种病毒 5 d 和 10 d 后的变化情况. “Control”表示对照组, 接种磷酸盐缓冲液. 柱状图表示从三个重复中获得结果的平均值和标准偏差, 并进行多重比较分析.

Fig. 2 Accumulation of ROS and MDA and activities of ROS-scavenging enzymes in TuMV-GFP inoculated *N. benthamiana* and *NahG* plants under different temperatures

A, NBT and B, DAB staining, C, MDA content. D and E, Activities of ROS-scavenging enzymes and the content of glutathione in TuMV-GFP inoculated *N. benthamiana* and *NahG* plants under different temperatures at 5 and 10 dpi. “Control” indicates plants mock inoculated with phosphate buffer. Bars represent mean and standard deviation of values obtained from three biological replicates and use multiple comparison analysis.

在 23 ℃处理下,与 Nb 相比,NahG 烟草上出现更严重的病毒感染症状,生长发育受到明显抑制.然而,相反的情况却出现在 30 ℃处理组内,在此温度条件下,虽然病毒扩散速度提高,但 Nb 与 NahG 植株中的病毒均受到了高温的影响,复制和扩展受

到削弱,呈现的症状和荧光都较 23 ℃处理下的轻微和减弱. Western blot 分析也证明了这一现象(图 1B):在 30 ℃处理下,NahG 中病毒衣壳蛋白的(TuMV-CP)积累量相对 Nb 中的更低;而在 23 ℃处理下,情况则不同.

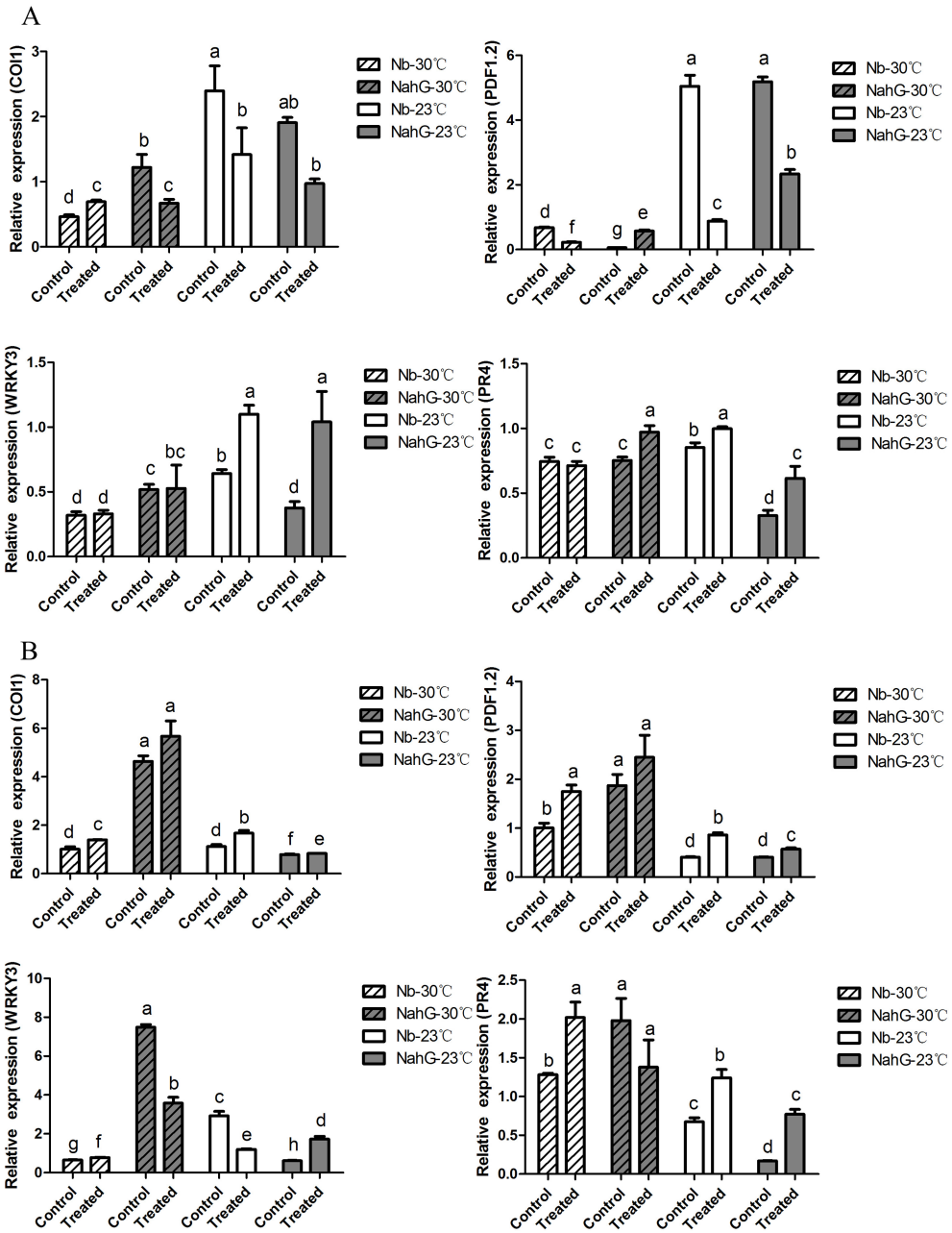


图 3 TuMV-GFP 接种的 Nb 和 NahG 中 JA 通路相关基因的表达检测

A,*COI1*, *PDF1.2*, *WRKY3* 和 *PR4* 在接种后第 5 d 的表达水平. B,*COI1*, *PDF1.2*, *WRKY3* 和 *PR4* 在接种后第 10 d 的表达水平. “Control”表示对照组,接种磷酸盐缓冲液.柱状图表示从三个重复中获得结果的平均值和标准偏差,并进行多重比较分析.

Fig. 3 Expression analysis of JA signaling related genes in TuMV-GFP infected *N. benthamiana* and NahG plants
A, Expression level of *COI1*, *PDF1.2*, *WRKY3* and *PR4* at 5 dpi. B, Expression level of *COI1*, *PDF1.2*, *WRKY3* and *PR4* at 10 dpi. “Control” indicates plants mock inoculated with phosphate buffer. Bars represent mean and standard deviation of values obtained from three biological replicates and use multiple comparison analysis.

3.2 高温对染病植株氧化还原代谢的影响结果

为了进一步探究温度对病毒接种植株活性氧生成及氧化还原代谢的影响,利用染色和测定细胞损伤研究了活性氧及氧化还原酶类的变化.结果显示,23℃条件下,受感染植物中超氧离子与过氧化氢的积累量远高于 30℃处理(图 2A,2B),且在 NahG 中的积累量高于 Nb 中的积累量.23℃条件下,MDA 的积累量在接种病毒的 NahG 植株中显著高于 Nb 植株(图 2C);而在 30℃处理下,MDA 积累量在两种

接种病毒的本氏烟中均比 23℃条件下的少,而且在 NahG 中的积累量更少.此外,在接种病毒的 NahG 植物中,还原性谷胱甘肽的含量显著高于 Nb 植株.在接种后第 5 d,超氧化物歧化酶(SOD)的活性在高温处理下的 NahG 植株中高于 Nb 植株(图 2D);接种后第 10 d 时,高温处理下的植株中过氧化氢酶(CAT)的活性显著升高(图 2E).这些结果说明高温(30℃)能够提高感病植株抗氧化相关酶类的活性,减少活性氧物质的产生,减轻膜损伤.

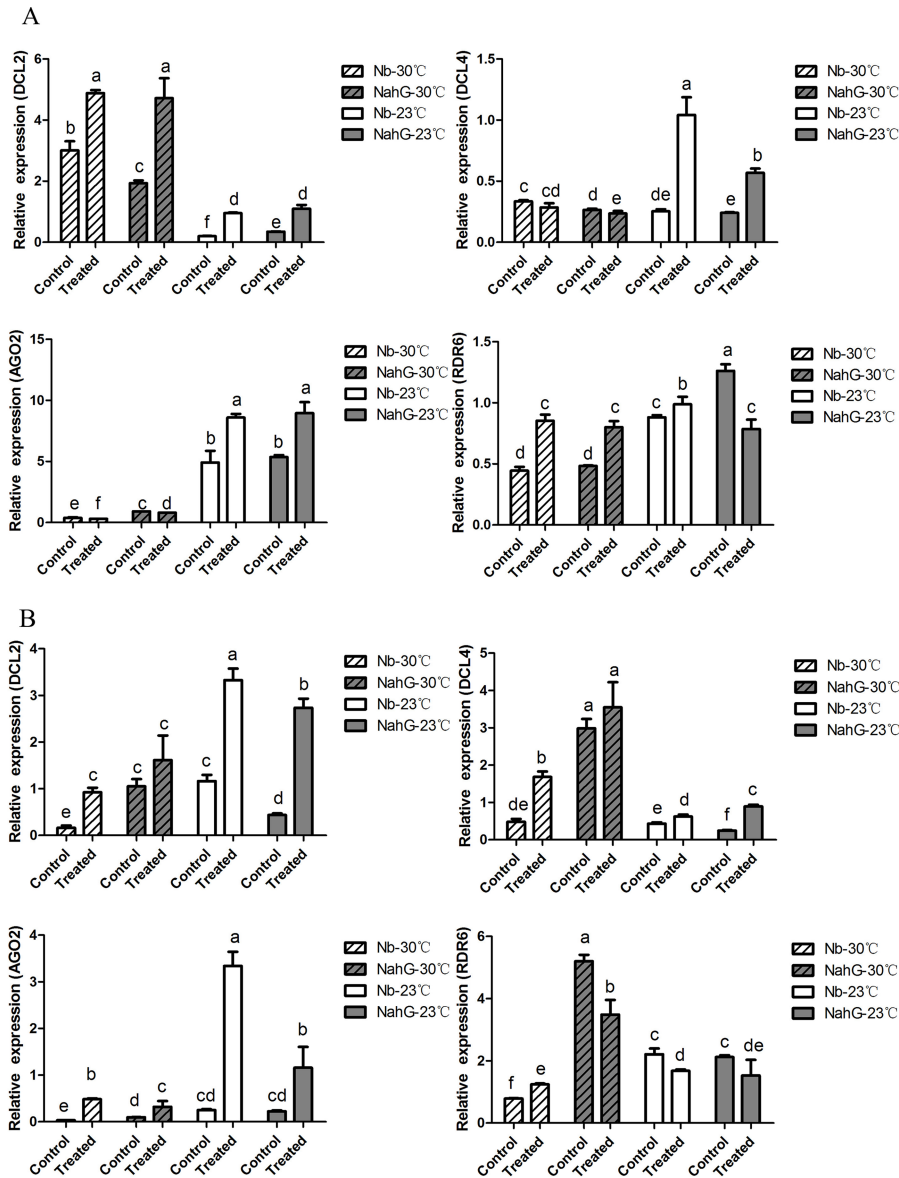


图 4 TuMV-GFP 接种的 Nb 和 NahG 中 RNA 沉默相关基因的表达检测
A, DCL2, DCL4, AGO2, RDR6 等基因在接种后五天的表达量. B, DCL2, DCL4, AGO2, RDR6 等基因在接种后第十天的表达量. “Control”表示对照组,磷酸盐缓冲液接种.柱状图表示从三个重复中获得结果的平均值和标准偏差,并进行多重比较分析.
Fig. 4 Expression analysis of RNA silencing related genes in TuMV-GFP infected *N. benthamiana* and NahG plants under different temperatures at 5 dpi and 10 dpi
A, Expression level of DCL2, DCL4, AGO2 and RDR6 at 5 dpi. B, Expression level of DCL2, DCL4, AGO2 and RDR6 at 10 dpi. “Control” indicates plants mock inoculated with phosphate buffer. Bars represent mean and standard deviation of values obtained from three biological replicates and use multiple comparison analysis.

3.3 高温下茉莉酸相关基因在染病 NahG 植株中的表达

茉莉酸通路调节因子 *COI1* 和 *PDF1.2* 的表达呈现出有规律的变化. 在侵染早期(5dpi), 高温处理植株中 *COI1* 和 *PDF1.2* 表达量均出现了显著下降(图 3A). 在侵染后期(10dpi), *COI1* 和 *PDF1.2* 的表达在高温处理的植物中上升(图 3B), 且在 NahG 的表达量要高于 Nb, 尤其是 *COI1*. 同时, 两种植物中 *PR4* 表达量也受到了高温处理的影响, 展现出同 *COI1* 和 *PDF1.2* 在时间上的趋同性(图 3A, 3B). 在侵染后期, JA 通路的另一关键转录因子 *WRKY3* 在 NahG 中的表达量也显著上调(图 3B). 这些结果说明, 在高温处理下, JA 相关基因的表达能够显著影响植物对病毒的抗性, 在提高抗性中扮演了重要的角色.

3.4 RNA 沉默通路基因在染病 NahG 植株中的表达结果

RNA 沉默是高等生物细胞中广泛存在的一种保守的抗病毒机制. 为了研究不同温度下水杨酸缺陷型烟草突变体中 RNA 沉默响应病毒侵染的作用, 检测了植物中与 RNA 沉默途径相关的元件. 实验结

果显示, 高温处理下, *DCL2* 的表达量在侵染早期显著上调(图 4A), 同时, *DCL4* 和 *AGO2* 的表达量下降, 在两种植物之间这种差异并不明显. 相反, 与 Nb 相比, *DCL4* 及 *RDR6* 在 NahG 中的表达量在接种后第十天显著上升(图 4B). 另外, 尽管 *DCL2* 在病毒侵染后期(10dpi)下降显著, 但是其在 NahG 中的表达量仍然高于 Nb(图 4B). 这些结果表明 *DCL2*, *DCL4*, *RDR6* 等 RNA 沉默关键元件能够在高温条件下影响 NahG 植株对 TuMV-GFP 的抗性.

3.5 高温下染病植株的绿岛症状

植物叶片上的绿岛是受侵染植物中的一类恢复组织. 在本实验中, 高温处理下的染病植株上会出现绿岛症状, 同时, 在 NahG 上出现的绿岛的数量高于 Nb(图 5A). 此外, 病毒在 NahG 上的积累量明显少于 Nb, 这与绿岛出现的趋势一致(图 5B). 从接种后第 15 d 开始, 高温处理下接种植株上病毒显现的绿色荧光逐渐减弱, 植株染病症状几乎完全消失. 这些结果说明高温能够诱导绿岛生成并使感病植物在病毒侵染下幸存, 最终出现复苏, 说明绿岛的生成与植物抗性有着密切关系.

4 讨 论

温度对植物防御外界病原物的侵染有着重要的影响, 高温胁迫是其中作用最明显的环境因子^[17]. 当植物遭受到胁迫时, 自身会生成大量的 ROS 如 $O_2^{\cdot -}$ 、 H_2O_2 等, 这些物质能够在植物受到伤害时充当第二信使传导信号引起植物对胁迫的响应^[18]. 本研究通过对接种病毒后植物的症状和系统叶面的荧光观察, 发现高温具有抑制病毒在植物中侵染和复制的作用. 氧化还原系统中的酶类与植物对抗逆境的抗氧化机制联系紧密, 还原性物质诸如谷胱甘肽等也起到了重要的作用^[19]. 本研究中植物的抗氧化系统受到高温和病毒侵染的双重影响, 部分抗氧化酶的活性与还原性物质的含量在高温和病毒的作用下上升, 在时空上出现交替变化的趋势, 说明高温处理能够对抗氧化酶和还原性物质产生诱导, 提高植物的抗病毒能力.

本研究发现, *COI1* 和 *PDF1.2* 基因的表达在实验植株中出现有规律的变化, 均在侵染后期显著上调(图 3B). 这一结果表明高温能够影响 JA 信号通路从而使其在抗病毒中发挥作用. 另外, 研究表明 *WRKY3* 能够在拟南芥中维持茉莉酸的活性水平, 保护其正常作用^[20]. 而 *PR4* 在 JA 响应的防御反应机制中扮演着重要的角色^[21]. 本实验中, *WRKY3* 与

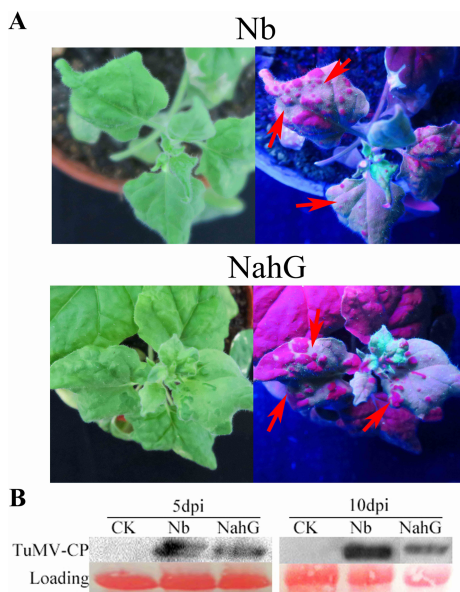


图 5 TuMV-GFP 接种的 Nb 和 NahG 中绿岛及病毒积累量的检测

A, 接种后第 10 d Nb 和 NahG 植株中绿岛症状的观察. B, TuMV-CP 蛋白在接种病毒第 10 d 烟草系统叶上积累量的 Western 检测. “Mock”表示对照组, 磷酸盐缓冲液接种.

Fig. 5 Analysis of DGIs and viral accumulation in TuMV-GFP inoculated *N. benthamiana* and NahG plants under high temperature

A, Abundance of DGIs in different plants at 10dpi. B, Western blotting analysis of TuMV-CP levels 10 dpi. “Mock” indicates plants mock inoculated with phosphate buffer.

PR4 显示出的表达变化与前述效应因子相同,并且在 NahG 植株中的表达量更高(图 3B). 这些结果显示出高温环境下 JA 在植物抗病毒响应中的作用,并且在水杨酸缺陷的植物(NahG)中效能更明显.

RNA 沉默是植物抵抗病毒侵染过程中有效的防御机制. 本实验中,高温处理下 DCL2 与 DCL4 在染病植物中的表达出现了时空交替的上调(图 4A, 4B). 近来有研究表明, DCL2 能在其自身沉默不能作用时,通过刺激 DCL4 来保持其自身传递性和控制第二信使 siRNA 产生^[22]. 本研究的结果表明 DCL2 与 DCL4 可以在高温诱导下产生相互作用, DCL2 主要作用于病毒侵染前期,而 DCL4 作用于后期. 同时,在侵染前期, RDR6 在高温处理下的染病植物中的表达量显著升高,但在常温处理下的 NahG 烟草中, RDR6 却出现相对的下调(图 4A). 这些结果暗示了高温条件下烟草中 RNA 沉默介导的病毒抗性可能与其他机制有所关联.

绿岛(Dark green island, DGI)是植物感染花叶病毒后的常见症状, DGIs 可以看作是病毒侵入与寄主防御反应之间冲突及转录后基因沉默的结果^[23]. 高温条件下,植物接种病毒第十天左右在系统叶上会出现 DGIs. 与 Nb 植株相比, NahG 烟草上出现数量更多且面积更大的绿岛(图 5). 出现绿岛的染病植物均会恢复(Recovery),最终存活下去. 这些结果进一步说明转录后基因沉默的抗病毒作用.

综上,本文发现了高温可能是通过 RNA 沉默途径及独立于水杨酸的激素途径提高了植株对病毒的抗性. 高温条件下,茉莉酸能够在水杨酸缺乏的情况下调节病毒抗性. 烟草中的 RNA 沉默途径在高温下得到诱导,提高了植物的抗性;促进了 DGIs 的形成,使受侵染植株免于死亡. 研究环境因子与植物病害发生的内在联系,能够了解不同防御信号通路之间复杂的关系,对阐明植物免疫系统与环境适应的机制有着深远的意义.

参考文献:

- [1] Dodds P N, Rathjen J P. Plant immunity: towards an integrated view of plant-pathogen interactions [J]. Nat Rev Genet, 2010, 11: 539.
- [2] Hua J. Modulation of plant immunity by light, circadian rhythm, and temperature [J]. Curr Opin Plant Biol, 2013, 16: 406.
- [3] Manfre A, Glenn M, Nuñez A, *et al.* Light quantity and photosystem function mediate host susceptibility to *Turnip mosaic virus* via a salicylic acid - independent mechanism [J]. Mol Plant Microbe Interact, 2011, 24: 315.
- [4] Roden L C, Ingle R A. Lights, rhythms, infection: the role of light and the circadian clock in determining the outcome of plant - pathogen interactions [J]. Plant Cell, 2009, 21: 2546.
- [5] 邓亚男, 刘志斌, 王健美, 等. 过表达 E3 泛素连接酶 ABRv1 通过泛素化 CPK3 提高拟南芥干旱耐受 [J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2018, 55: 614.
- [6] Dropkin V H. Necrotic reaction of tomatoes and other hosts resistant to meloidogyne: reversal by temperature [J]. Phytol, 1969, 59: 1632.
- [7] Prasch C M, Sonnewald U. Simultaneous application of heat, drought, and virus to Arabidopsis plants reveals significant shifts in signaling networks [J]. Plant Physiol, 2013, 162: 1849.
- [8] Singh D P, Moore C A, Gilliland A, *et al.* Activation of multiple antiviral defence mechanisms by salicylic acid [J]. Mol Plant Pathol, 2004, 5: 57.
- [9] An C F, Mou Z L. Salicylic acid and its function in plant immunity [J]. J Integr Plant Bio, 2011, 53: 412.
- [10] Sharma M, Laxmi A. Jasmonates: emerging players in controlling temperature stress tolerance [J]. Front Plant Sci, 2016, 6: 1129.
- [11] Rout E, Nanda S, Joshi R K. Molecular characterization and heterologous expression of a pathogen induced PR5 gene from garlic (*Allium sativum* L.) conferring enhanced resistance to necrotrophic fungi [J]. Eur J Plant Pathol, 2016, 144: 345.
- [12] Cheng C, Gao X, Feng B, *et al.* Plant immune response to pathogens differs with changing temperatures [J]. Nat Commun, 2013, 4: 2530.
- [13] Deleris A, Gallego-Bartolome J, Bao J, *et al.* Hierarchical action and inhibition of plant Dicer-like proteins in antiviral defense [J]. Science, 2006, 313: 68.
- [14] Yang H, Wang M, Gao Z. Isolation of a novel RNA dependent RNA polymerase 6 from *Nicotiana glutinosa*, NgRDR6, and analysis of its response to biotic and abiotic stresses [J]. Mol Biol Rep, 2011, 38: 929.
- [15] Kim B, Masuta C, Matsuura H I, *et al.* Necrosis induced by *Turnip mosaic virus* infection in Arabidopsis is a form of defense response accompanying HR-like cell death [J]. Mol Plant Microbe Interact, 2007, 21: 260.
- [16] Zhu F, Xi D H, Yuan S, *et al.* Salicylic acid and jasmonic acid are essential for systemic resistance a-

- against tobacco mosaic virus in *Nicotiana benthamiana* [J]. *Mol Plant Microbe In*, 2014, 27: 567.
- [17] Wang J J, Tao F, An F, *et al*. Wheat transcription factor TaWRKY70 is positively involved in high-temperature seedling plant resistance to *Puccinia striiformis* f. sp. *Tritici* [J]. *Mol Plant Pathol*, 2017, 18: 649.
- [18] Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2004, 55: 373.
- [19] Lin B, Zhuo K, Chen S Y, *et al*. A novel nematode effector suppresses plant immunity by activating host reactive oxygen species-scavenging system [J]. *New Phytol*, 2015, 209: 1159.
- [20] Melanie S, Nan Q, Ivan G, *et al*. Induced plant defenses in the natural environment; *Nicotiana attenuata* WRKY3 and WRKY6 coordinate responses to herbivory [J]. *Plant cell*, 2008, 20: 1984.
- [21] Bertini L, Leonardi L, Caporale C, *et al*. Pathogen-responsive wheat PR4 genes are induced by activators of systemic acquired resistance and wounding [J]. *Plant sci*, 2003, 164: 1067.
- [22] Parent J S, Bouteiller N, Elmayan T, *et al*. Respective contributions of *Arabidopsis* DCL2 and DCL4 to RNA silencing [J]. *The Plant J*, 2015, 81: 223.
- [23] Moore C J, Sutherland P W, Forster R L S, *et al*. Dark green islands in plant virus infection are the result of post transcriptional gene silencing [J]. *Mol Plant Microbe In*, 2001, 14: 939.

引用本文格式:

中 文: 徐振鹏, 邱隆, 杨婷, 等. 高温对本氏烟抗病毒机制影响的研究 [J]. *四川大学学报: 自然科学版*, 2019, 56: 749.

英 文: Xu Z P, Qiu L, Yang T, *et al*. The research on interaction between high temperature and viral defense mechanism in *Nicotiana benthamiana* [J]. *J Sichuan Univ: Nat Sci Ed*, 2019, 56: 749.